



TITLE:

Epithelial EP4 plays an essential role in maintaining homeostasis in colon(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Matsumoto, Yoshihide

CITATION:

Matsumoto, Yoshihide. Epithelial EP4 plays an essential role in maintaining homeostasis in colon. 京都大学, 2020, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2020-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22329>

RIGHT:

Final publication is available at
<https://www.nature.com/articles/s41598-019-51639-2> (This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License)

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	松 本 善 秀
論文題目	Epithelial EP4 plays an essential role in maintaining homeostasis in colon (腸管上皮の EP4 は大腸の恒常性維持において重要な役割を果たす)		
(論文内容の要旨)			
<p>腸管上皮細胞は粘膜バリアを構成しており、その機能障害は腸管内腔からの微生物侵入を促進し、腸炎を誘導する。プロスタグランジン E2 受容体のひとつ EP4 は粘液産生を含む様々な生物学的プロセスに必要とされ、EP4 全身ノックアウトマウスは腸炎発症に対する感受性が高い。しかしこれまでに腸管の恒常性維持における EP4 の上皮細胞特異的な役割は明らかとなっていない。そこで本研究では、腸上皮細胞特異的に EP4 を欠失させたマウス (EP4 cKO) を用いて、大腸の恒常性維持における EP4 の上皮細胞特異的な役割を調べることにした。</p> <p>EP4 cKO マウスでは、大腸陰窩管腔側に位置する表層上皮細胞のサイズは小さく、形状も不規則であった。また陰窩長は短縮し、杯細胞、タフト細胞、腸内分泌細胞などの分泌系細胞が減少していた。さらに EP4 cKO マウスでは、管腔側の大腸上皮で有意なアポトーシス亢進を認め、<i>Bak</i>、<i>Bid</i>、<i>Bim</i>、<i>Bax</i> などのアポトーシス関連遺伝子の発現が上昇していた。電子顕微鏡による解析では、EP4 cKO マウスの大腸上皮において変性ミトコンドリアや細胞表面の不整変化および細胞極性の異常がみられた。</p> <p>大腸上皮細胞における EP4 の役割をさらに検証するために、正常マウスの大腸上皮細胞から三次元スフェロイド培養系を作成し、EP4 阻害剤の投与実験を行った。EP4 阻害剤投与 48 時間後に、EP4 阻害剤投与によりスフェロイドの増大は有意に阻害された。またスフェロイド中の杯細胞数は EP4 阻害剤投与により有意に低下した。さらに EP4 阻害剤投与によりアポトーシス陽性細胞は有意に増加しており、上皮細胞の EP4 が細胞生存に必要であることが確認された。</p> <p>EP4 欠失による遺伝子発現の変動をさらに検討するため、マイクロアレイ解析を行った。その結果、アポトーシス、炎症反応、免疫応答にかかわる遺伝子の有意な発現上昇を認めた。EP4 欠失により変動した遺伝子を、ヒト炎症性腸疾患 (IBD) 関連遺伝子パネルの 92 遺伝子と比較したところ、29 の遺伝子が共通していた。さらに、ヒト IBD データセットを用いた解析から、IBD 患者では健常者と比較して EP4 遺伝子の発現が有意に低下しており、EP4 発現低下と IBD 発症の関連が示唆された。</p> <p>EP4 cKO マウス腸管における炎症反応を解析するために、腸管間質に浸潤する炎症細胞についても評価したところ、EP4 cKO マウス大腸ではマクロファージおよび CD4 陽性 T 細胞が増加していた。さらに mRNA 上も、EP4cKO マウス大腸の間質で F4/80、CD4、CD8a の発現が上昇し、複数の炎症性サイトカインとケモカインの発現も増加していた。</p> <p>最後に EP4 cKO マウスにデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を投与し実験的大腸炎を惹起したところ、EP4 cKO マウスでは血便が増加し、内視鏡検査で粘膜のびらん・発赤などの炎症性変化が増強していた。組織学的にも、EP4 cKO マウスで炎症細胞、とくにマクロファージと CD8 陽性 T 細胞の浸潤が顕著であった。このように、生理的条件下での潜在的炎症状態に加えて、EP4 の上皮細胞特異的欠失により DSS 投与に対する感受性が増強し、腸炎が増悪していた。</p> <p>以上の実験により、上皮細胞における EP4 は、大腸の恒常性維持、および炎症発生の抑制に重要であることが示唆された。</p>			

（論文審査の結果の要旨）			
<p>EP4 はプロスタグランジン E2 の受容体として知られ、粘液産生を含む様々な生物学的プロセスに必要である。本研究では、腸上皮細胞特異的に EP4 を欠失させたマウスを用いて、大腸の恒常性維持における EP4 の上皮細胞特異的役割を検討した。</p> <p>腸上皮細胞特異的 EP4 欠失は、大腸上皮における分泌系細胞の減少や陰窩構造の乱れを引き起こした。電子顕微鏡を用いた陰窩上皮細胞の解析や、上皮細胞の三次元培養系を用いた解析により、EP4 欠失が上皮細胞のアポトーシスを活性化することが明らかとなった。また、マイクロアレイ解析の結果、上皮細胞における EP4 の欠失はアポトーシス関連遺伝子と共に、腸炎関連遺伝子の変化をもたらすことが示された。これに一致する様に、腸上皮細胞特異的な EP4 の欠失は、マウス大腸に潜在的な炎症をもたらし、また腸炎実験モデルにおける腸炎の増悪を惹き起こした。EP4 欠失によって変化する遺伝子にはヒト炎症性腸疾患（IBD）関連遺伝子も含まれていた。加えて、ヒト IBD 遺伝子データセットを用いた解析から、EP4 の発現が IBD 患者において正常対照群と比較して低下していることが明らかとなり、EP4 の発現低下が IBD 患者の腸炎発症と関連している可能性が示唆された。</p> <p>以上の研究は、大腸の恒常性維持および腸炎発症機構の解明に貢献し、将来的な IBD の病態解明や治療法の開発に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和 2 年 1 月 16 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			